昆虫学报 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

http://www.insect.org.cn doi: 10.16380/j.kexb.2019.05.006

食物中多不饱和脂肪酸在家蝇幼虫体内的 富集与代谢及对其生长的影响

杨 阳^{1,2}, 罗 坤³, 江 超³, 吴建伟^{1,*}, 朱贵明^{1,2,3,*}

- (1. 贵州医科大学基础医学院现代病原生物学特色重点实验室,贵阳 550025;
- 2. 贵州医科大学生物与工程学院生物与医学工程重点实验室,贵阳 550025;
 - 3. 贵州医科大学医药生物技术工程研究中心, 贵阳 550025)

摘要:【目的】阐明家蝇 Musca domestica 幼虫对食物中各种多不饱和脂肪酸的富集能力以及代谢转化情况,并探究各种多不饱和脂肪酸对家蝇幼虫生长的影响。【方法】在基础饲料中添加不同浓度(3%,6%和12%)的多不饱和脂肪酸(亚油酸、 α -亚麻酸、花生四烯酸和二十二碳六烯酸)饲养经过脱脂传代培养的家蝇幼虫;提取家蝇幼虫的总脂肪酸,利用气相色谱仪进行检测和分析;测定统计幼虫体重,以分析多不饱和脂肪酸对家蝇幼虫生长的影响。【结果】亚油酸、 α -亚麻酸和花生四烯酸在家蝇幼虫体内均能被富集,且它们的富集程度随着食物中多不饱和脂肪酸的添加浓度的升高而增加,其中亚油酸、 α -亚麻酸和花生四烯酸在幼虫体内富集的最高含量(占体内总脂肪酸的比例)分别为21.93%,16.13%和9.68%,而二十二碳六烯酸不能在家蝇幼虫体内富集,提示家蝇幼虫食物中添加的各种多不饱和脂肪酸经过代谢后并没有在其体内产生新的脂肪酸,而食物中添加的二十二碳六烯酸在家蝇幼虫体内被分解代谢后消除。饲喂 α -亚麻酸及花生四烯酸后家蝇幼虫体重增长较为明显,其中6% α -亚麻酸添加组的幼虫体重显著高于对照组(取食脱脂饲料)和3%和12% α -亚麻酸添加组,3%和6%花生四烯酸添加组的幼虫体重显著高于对照组和12%花生四烯酸添加组。【结论】家蝇幼虫体内能够从食物中富集部分多不饱和脂肪酸,多不饱和脂肪酸碳链越长其富集程度越低直至不能富集,富集的多不饱和脂肪酸对家蝇幼虫生长有不同程度的影响。

关键词:家蝇;多不饱和脂肪酸;气相色谱;富集;代谢转化;生长发育

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2019)05-0578-08

Accumulation and metabolism of polyunsaturated fatty acids from food in *Musca domestica* larvae and the effects on their growth

YANG Yang^{1,2}, LUO Kun³, JIANG Chao³, WU Jian-Wei^{1,*}, ZHU Gui-Ming^{1,2,3,*} (1. The Key and Characteristic Laboratory of Modern Pathogen Biology, Basic Medical College, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. Key Laboratory of Biological and Medical Engineering, College of Biological and Engineering, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 3. Engineering Research Center of Medical Biotechnology, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

Abstract: [Aim] To clarify the accumulation and metabolic transformation of various polyunsaturated fatty acids in food by *Musca domestica* larvae, and to explore the effects of various polyunsaturated fatty acids on the growth of *M. domestica* larvae. [Methods] Different concentrations (3%, 6% and 12%) of

基金项目: 国家自然科学基金项目(31560253); 贵州省教育厅创新群体重大研究项目(黔教合 KY 字[2016]031); 贵州医科大学博士科研启动基金(黔 J2014 博合 001)

作者简介: 杨阳, 女, 1990年1月生, 天津市人, 硕士研究生, 研究方向为医学昆虫分子生物学, E-mail: 695721844@ qq. com

^{*}通讯作者 Corresponding authors, E-mail: wjw@gmc.edu.cn; zgmx926@sina.com

polyunsaturated fatty acids (linoleic acid, alpha-linolenic acid, arachidonic acid and docosahexaenoic acid) were added to the basic diet to feed the M. domestica larvae which had been defatted and subcultured for generations, the total fatty acids of M. domestica larvae fed on the feed were extracted, detected and analyzed by gas chromatography, and the body weight of the larvae was detected to assess the effects of polyunsaturated fatty acids on the growth of M. domestia larvae. [Results] Linoleic acid, alpha-linolenic acid and arachidonic acid were enriched in M. domestica larvae, and their enrichment degree increased with the increase of the concentration of polyunsaturated fatty acids in food. The highest concentrations (the proportion in total fatty acids) of linoleic acid, alpha-linolenic acid and arachidonic acid enriched in larvae were 21.93%, 16.13% and 9.68%, respectively, while docosahexaenoic acid could not be enriched in M. domestica larvae, suggesting that polyunsaturated fatty acids added to the larvae of M. domestica have been metabolized without production of new fatty acids in their bodies, while docosahexaenoic acid from food is eliminated after catabolism. The body weight of M. domestica larvae was significantly increased after feeding on diets containing alpha-linolenic acid and arachidonic acid. The larval weight in the 6% alpha-linolenic acid added group was significantly higher than that in the control group (larvae feeding on defatted culture) and 3% and 12% alpha-linolenic acid added groups, and the larval weight in the 3% and 6% arachidonic acid added groups was significantly higher than that in the control group and 12% arachidonic acid added group. [Conclusion] M. domestica larvae can enrich some polyunsaturated fatty acids from food. The longer the carbon chain of polyunsaturated fatty acids, the lower the degree of enrichment of polyunsaturated fatty acids until they can not be enriched. The enriched polyunsaturated fatty acids have influences on the growth of M. domestica larvae in different degrees.

Key words: *Musca domestica*; polyunsaturated fatty acids; gas chromatography; enrichment; metabolic transformation; growth and development

多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)是指含有两个或两个以上烯键(双键)且碳 链长为18~22个碳原子的直链脂肪酸,因其具有特 殊的分子结构和重要的生理功能而受到广泛的关注 和研究(Simopoulos, 1999; Connor, 2000)。常见的 PUFAs 包括亚油酸(linoleic acid, LA)(18:2n-6)、α-亚麻酸(alpha-linolenic acid, ALA)(18:3n-3)、花生 四烯酸(arachidonic acid, ARA)(20:4n-6)、二十碳 五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)(20:5n-3)和二 十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)(22:6n-3)等。在细胞水平, PUFAs 参与细胞膜的结构组 成,保持细胞膜的流动性、柔性和选择通透性,并具 有较强的抗氧化功能。在器官和系统水平, PUFAs 在促进人的大脑、视网膜等器官的发育和功能维持 等方面具有重要的功能,在预防和治疗心血管疾病、 炎症、癌症等多种疾病方面亦有显著效果(Rogers et al., 2013)。研究发现,通过饮食补充 DHA 和 ARA, 老年痴呆病人的认知状况得到了明显改善,并且使 用PUFAs食物对血管性痴呆及早老性痴呆都有预 防作用(Leaf and Kang, 2004; Wysoczański et al.,

2016)

PUFAs 生物合成机制以及生物学功能在哺乳动 物中已经得到了比较深刻的阐释(Kabeya et al., 2018),但在昆虫类生物中相关研究报道比较欠缺。 许多种类的昆虫富含某些特定类型的多不饱和脂肪 酸。实际上,大多数昆虫所含有的多不饱和脂肪酸 为 C18-PUFAs 即亚油酸或 α-亚麻酸,其含量最高可 达到45%左右(指占体内总脂肪酸的比重,下同), 最低则不到 1% (Stanley-Samuelson and Pedibhotla, 1996; Rumpold and Schlüter, 2013)。但是,亦有少 量几种昆虫因其特殊食物而在体内富集了一定量的 花生四烯酸、二十碳五烯酸以及二十二碳六烯酸,如 膜翅目黄猄蚁 Oecophylla smaragdina、鞘翅目粪金龟 等 (Raksakantong et al., 2010)。家蝇 Musca domestica 幼虫和蛹的多不饱和脂肪酸以亚油酸为 主,其含量变化范围在15%~25%之间,同时也含 有约2%的α-亚麻酸。由于家蝇幼虫油脂含量占干 重可达 22.50%,故其亚油酸实际含量相当可观 (Hwangbo et al., 2009)。家蝇等昆虫体内的多不饱 和脂肪酸发挥何种生物学功能逐渐被研究者所关 注。一些研究表明,食物中缺乏 α-亚麻酸和亚油酸可引起昆虫幼虫死亡、蜕皮失败、成虫发育畸形和繁殖力下降等现象。鳞翅目蛾类昆虫羽化时如果缺乏亚油酸、α-亚麻酸,则羽化出的成虫出现畸形或翅表面无鳞片(Wang et al., 2006)。这说明多不饱和脂肪酸与昆虫生长发育等生物学特性密切相关。家蝇通常只含有 C18 的 PUFAs,其生物学功能相关研究报道几乎没有,而家蝇体内基本检测不到的 C20 和C22 的 PUFAs 能否通过食物进入家蝇体内、是否对家蝇产生生物学效应目前仍尚未可知。

昆虫被认为是未被充分利用的、最具开发利用潜力的动物资源,其中最具代表性之一的昆虫便是家蝇。家蝇繁殖快,生产效率高。据测算,自1对家蝇起始,在4个月内能繁育2000亿头幼虫(蝇蛆),可积累纯蛋白质600多吨。家蝇富含脂肪酸,是除了蛋白质之外的第二大类物质,其含量可达总干重的20%以上。家蝇脂类物质是在家蝇资源开发利用中除了蛋白类、几丁质、壳聚糖等物质之外的又一个重要开发对象。但如何利用好家蝇脂类是一个值得深入研究的方向,本研究通过给家蝇饲喂食物来源的各种多不饱和脂肪酸,然后利用气相色谱法对家蝇幼虫体内的脂肪酸进行分析,阐明家蝇对多不饱和脂肪酸的富集能力以及代谢情况,为家蝇多不饱和脂肪酸的生物学功能研究及其开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫及饲养方法

实验中所用家蝇为本实验室驯化和保存品系。来源于贵州医科大学基础医学院现代病原生物学重点实验室,其培养条件:温度 25~28℃,相对湿度 70%,每日光照时间不少于 12 h。为尽可能除去家蝇体内原有 PUFAs,以麦麸作为家蝇幼虫基础饲料饲养,以脱脂奶粉(澳大利亚德运脱脂乳粉,其每百克乳粉脂肪含量 1.2 g)与白砂糖 1:1配比作为家蝇成虫的基础饲料,以此方法作为家蝇脱脂培养方法进行处理并传代培养 3 代,然后在第 3 代家蝇成虫中接卵,接卵时间统一集中在 14:00 - 16:00,接卵后把蝇卵转移到幼虫基础饲料中饲养到 1 日龄备用。

1.2 供试试剂

用于实验的 4 种多不饱和脂肪酸包括亚油酸、α-亚麻酸、花生四烯酸和二十二碳六烯酸,其中亚油

酸用红花籽油(亚油酸含量 62%,购自邯郸晨光珍品油脂有限公司)代替,α-亚麻酸用紫苏籽油(α-亚麻酸含量 45%,购自吉林市圣基实业有限公司)代替,花生四烯酸和二十二碳六烯酸分别用花生四烯酸油脂(花生四烯酸含量 43%)和二十二碳六烯酸油脂(二十二碳六烯酸含量 33%)代替,二者购自嘉必优生物技术(武汉)股份有限公司。上述多不饱和脂肪酸产品在本实验中均已重新测定其具体成分与含量(测定方法见 1.4 节)。

1.3 家蝇幼虫在含不同浓度多不饱和脂肪酸的饲料上的饲养和取样

将提前饲养好的1日龄幼虫接种到含不同浓度(低、中、高浓度分别为3%,6%和12%)的多不饱和脂肪酸(亚油酸、α-亚麻酸、花生四烯酸和二十二碳六烯酸)幼虫饲料中饲养,以脱脂传代培养的家蝇幼虫为对照,每一组均接种50头,饲养至化蛹前期,幼虫基本老熟状态,每组随机挑取10头老熟幼虫作为样品,用于提取幼虫体内的脂肪酸进行后续实验,每组实验设置3次重复。

1.4 家蝇幼虫脂肪酸的提取及甲基化处理

参考 Kang 和 Wang(2005)方法,制备家蝇幼虫脂肪酸样品,该法可快速简便地同步完成脂肪酸的提取和甲基化,具体方法为:取适量样品(10 头老熟幼虫),置于反应瓶,加入1 mL 14% BF₃/MeOH 试剂(含 0.005% BHT),充分混匀并充入氮气,100℃加热1 h,冷却后加1 mL ddH₂O 和1 mL 正已烷,剧烈混匀,转移至5 mL 离心管,3 000 r/min 离心5 min,吸取上清,氮气吹干浓缩,加入含 0.005%BHT 的正已烷适量用于气相色谱(GC)分析或充氮气保存于 -20℃备用。亚油酸、α-亚麻酸、花生四烯酸和二十二碳六烯酸的替代品与油脂 GC 检测前的处理和甲基化与此方法相同(所有实验样品均甲基化处理)。

1.5 家蝇幼虫脂肪酸气相色谱分析

气相色谱仪型号为 HP5890,检测器: FID;分流 进样分流比为 20:1,载气为氮气(99.999%)。色谱 柱为 Omegawax 250 毛细管柱(Supelco, 30 m × 0.25 mm I. D.)。进样器温度: 260° ;检测器温度 为 280° 。运用程序为: 初始炉温为 200° ,以 1.5° /min 升温至 260° ,保持 2 min;进样量: $1~\mu$ L;单个样品检测运行时间约为 42 min。

图像采集处理:用 N2000 色谱数据工作站采集 图谱,并处理分析所采集的图谱数据。色谱峰采用 PUFAs 标准品来进行鉴定。采用面积归一法求各色 谱峰的面积,得出样品中各种脂肪酸的相对含量。 试验中样品与标准品均经同一方法甲基化处理。每 一种脂肪酸百分含量按其峰面积除以表中所列所有 脂肪酸峰面积总和而计算获得。

1.6 饲喂不同浓度的多不饱和脂肪酸后家蝇幼虫 体重的测定

挑取1日龄幼虫接种到含有不同浓度梯度 (低、中、高浓度分别为3%,6%和12%)的4种多 不饱和脂肪酸(亚油酸、α-亚麻酸、花生四烯酸和二 十二碳六烯酸)饲料中进行饲养,以脱脂传代培养 的家蝇幼虫为对照,每组各25头,饲养3日后,挑取 全部幼虫用蒸馏水洗净,然后用吸水纸把幼虫体表 水分吸干,称出幼虫体重,记录好数据。

1.7 数据分析

统计学软件使用 SPSS18.0,脂肪酸含量等结果 采用平均值 \pm 标准差表示。组间数据比较采用单因 素方差分析(one-way ANOVA), Duncan 氏检验,以 P < 0.05 作为统计学差异显著性的判断标准。

2 结果

2.1 PUFAs 的替代产品的 GC 分析

对亚油酸的替代产品红花籽油、α-亚麻酸的替代产品紫苏籽油、花生四烯酸的替代产品花生四烯酸油脂和二十二碳六烯酸的替代产品二十二碳六烯酸油脂的脂肪酸成分进行的 GC 分析结果(表1)表明,红花籽油可检测出 4 种脂肪酸,即 14.96%的棕榈酸、3.75%的硬脂酸、18.57%的油酸和 62.71%的亚油酸;紫苏籽油可检测出 5 种脂肪酸,即 14.66%的棕榈酸、4.51%的硬脂酸、18.81%的油酸、17.04%的亚油酸和 44.96%的 α-亚麻酸;花生四烯酸油脂可检测出 7 种脂肪酸,即 15.50%的棕榈酸、12.10%的硬脂酸、8.09%的油酸、5.41%的亚油酸、42.97%的花生四烯酸、4.64%的二十碳五烯酸和 11.26%的二十二碳五烯酸;二十二碳六烯酸油脂可检测出 3 种脂肪酸,即 14.62%的肉豆蔻酸、油脂可检测出 3 种脂肪酸,即 14.62%的肉豆蔻酸、

表 1 4 种多不饱和脂肪酸替代品 GC 分析的成分及含量(%)

Table 1 Composition and content (%) of four polyunsaturated fatty acid substitutes detected by GC analysis

脂肪酸	红花籽油	紫苏籽油	花生四烯酸油脂	二十二碳六烯酸油脂
Fatty acids	Safflower seed oil	Perilla oil	Arachidonic acid oil	Docosahexaenoic acid oil
肉豆蔻酸 Myristic acid	ND	ND	ND	14.62
棕榈酸 Palmitic acid	14.96	14.66	15.50	51.61
硬脂酸 Stearic acid	3.75	4.51	12.10	ND
油酸 Oleic acid	18.57	18.81	8.09	ND
亚油酸 Linoleic acid	62.71	17.04	5.41	ND
α-亚麻酸 Alpha-linolenic acid	ND	44.96	ND	ND
花生四烯酸 Arachidonic acid	ND	ND	42.97	ND
二十碳五烯酸 Eicosapentaenoic acid	ND	ND	4.64	ND
二十二碳五烯酸 Docosapentaenoic acid	ND	ND	11.26	ND
二十二碳六烯酸 Docosahexaenoic acid	ND	ND	ND	33.43

ND: 未检测到,表示含量低于气相色谱仪的检测阈值 Undetectable, indicating that the content is below the detection threshold of gas chromatograph.

51.61%的棕榈酸和 33.43%的二十二碳六烯酸。可见,4 种多不饱和脂肪酸的替代产品中,相应的多不饱和脂肪酸含量上均占绝对优势,可满足本实验研究需要。

2.2 家蝇幼虫饲喂多不饱和脂肪酸后的 GC 分析

脂肪酸标准品的 GC 检测结果见图 1。利用含不同浓度的亚油酸、α-亚麻酸、花生四烯酸和二十二碳六烯酸 4 种多不饱和脂肪酸的家蝇幼虫饲料饲养幼虫至化蛹前期,提取幼虫体内的脂肪酸进行 GC 分析,结果表明(图 2;表 2),家蝇幼虫能够摄取并富集亚油酸、α-亚麻酸和花生四烯酸 3 种多不饱和脂肪酸,且富集程度随食物中多不饱和脂肪酸添加

浓度的升高而升高,食物中添加浓度为3%的亚油酸,家蝇幼虫体内可检测到15.78%的亚油酸;添加浓度为12%的亚油酸,体内可检测到21.93%的亚油酸。α-亚麻酸在家蝇幼虫体内的富集量仅次于亚油酸,而花生四烯酸的富集较低,添加浓度为12%花生四烯酸时,幼虫体内花生四烯酸含量才达到9.68%。但是,家蝇幼虫在饲喂二十二碳六烯酸后并不能够在其体内富集,GC分析完全检测不到。此外,在对照组(经过脱脂传代培养的家蝇幼虫)中,亚油酸、α-亚麻酸、花生四烯酸和二十二碳六烯酸4种多不饱和脂肪酸均没有检测到,说明脱脂传代非常有效。

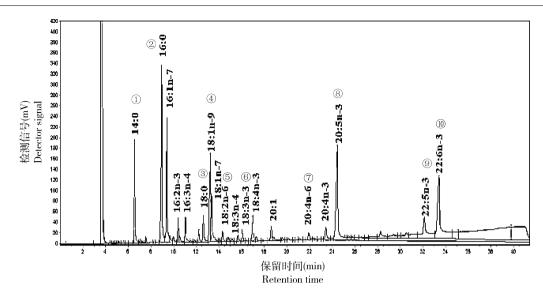


图 1 脂肪酸标准品的 GC 检测结果

Fig. 1 Gas chromatograph traces showing the fatty acid profiles of standard samples

①: 肉豆蔻酸 Myristic acid; ②: 棕榈酸 Palmitic acid; ③: 硬脂酸 Stearic acid; ④: 油酸 Oleic acid; ⑤: 亚油酸 Linoleic acid; ⑥: α-亚麻酸 Alpha-linolenic acid; ⑦: 花生四烯酸 Arachidonic acid; ⑧: 二十碳五烯酸 Eicosapentaenoic acid; ⑨: 二十二碳五烯酸 Docosapentaenoic acid; ⑩: 二十二碳六烯酸 Docosahexaenoic acid.

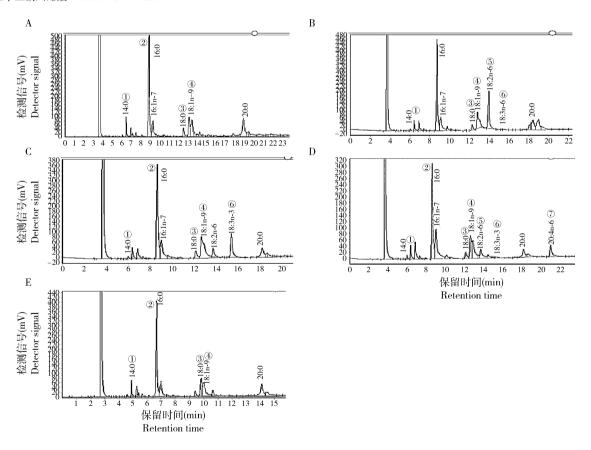


图 2 饲喂不同多不饱和脂肪酸(PUFAs)后家蝇幼虫体内脂肪酸 GC 检测结果

Fig. 2 Gas chromatograph traces showing fatty acid profiles of total lipids extracted from *Musca domestica* larvae fed on different polyunsaturated fatty acids (PUFAs)

A: 对照(脱脂传代培养)Control (fed on defatted culture in the laboratory); B: 12% 亚油酸 12% Linoleic acid; C: 12% α-亚麻酸 12% Alphalinolenic acid; D: 12% 花生四烯酸 12% Arachidonic acid; E: 12% 二十二碳六烯 12% Docosahexaenoic acid. ①: 肉豆蔻酸 Myristic acid; ②: 棕榈酸 Palmitic acid; ③: 硬脂酸 Stearic acid; ④: 油酸 Oleic acid; ⑤: 亚油酸 Linoleic acid; ⑥: α-亚麻酸 Alpha-linolenic acid; ⑦: 花生四烯酸 Arachidonic acid; ⑧: 二十碳五烯酸 Eicosapentaenoic acid; ⑨: 二十二碳五烯酸 Docosapentaenoic acid; ⑩: 二十二碳六烯酸 Docosahexaenoic acid.

表 2 饲喂不同浓度多不饱和脂肪酸(PUFAs)后家蝇幼虫体内脂肪酸组分及含量(%) Table 2 Fatty acid components and contents (%) in *Musca domestica* larvae fed on different concentrations of polyunsaturated fatty acids (PUFAs)

脂肪酸 Fatty acids	对照组 Control group	3%	6%	12%
亚油酸 Linoleic acid	ND	$15.78 \pm 0.88 \text{ b}$	20.92 ± 1.17 a	21.93 ± 1.21 a
α-亚麻酸 Alpha-linolenic acid	ND	10.30 ± 0.61 c	$13.77 \pm 0.69 \text{ b}$	16.13 ± 0.92 a
花生四烯酸 Arachidonic acid	ND	$4.01 \pm 0.37 \text{ c}$	$6.40 \pm 0.42 \text{ b}$	9.68 ± 0.56 a
二十二碳六烯酸 Docosahexaenoic acid	ND	ND	ND	ND

ND: 未检测到,表示含量低于气相色谱仪的检测阈值 Undetectable, indicating that the content is below the detection threshold of the gas chromatograph. 对照组家蝇幼虫为实验室脱脂传代培养。表中数据为各多不饱和脂肪酸占幼虫体内总脂肪酸的百分比,数值为 3 次重复实验的平均值,以平均值 ±标准差表示。每行数据后不同字母的数值之间差异显著(P<0.05)(单因素方差分析, Duncan 氏检验)。表 3 和 4 同。 In the control group the larvae were fed with defatted culture in the laboratory. The data in the table are the average percentage of polyunsaturated fatty acids to total fatty acids of the larvae in three repeated experiments, and represented as mean ± standard deviation (SD). Different letters following the data in the same row indicate significant difference (one-way ANOVA, Duncan's test)(P<0.05). The same for Tables 3 and 4.

GC 分析结果也表明,家蝇幼虫摄入多不饱和脂肪酸后对其体内脂肪酸组成产生了很大的影响。经过脱脂传代培养的家蝇幼虫即对照组中只能检测到6 种脂肪酸,具体包括2.14%的肉豆蔻酸、37.25%的棕榈酸、13.68%的棕榈油酸、3.80%的硬脂酸、31.24%的油酸、11.89%的花生酸。可见对照组家蝇幼虫体内不含多不饱和脂肪酸。但是,当饲喂含有多不饱和脂肪酸的食物后,家蝇幼虫体内出现不同类型的多不饱和脂肪酸(表3,仅列出添加浓度为12%的实验组),当添加浓度为12%的亚油酸后,家蝇幼虫体内随即出现21.93%的亚油酸;添加浓度

为 12% 的 α-亚麻酸后, 家蝇幼虫体内不仅出现 16.13%的 α-亚麻酸,还出现 6.16%的亚油酸(来源于 α-亚麻酸的替代产品紫苏籽油);添加浓度为 12%的花生四烯酸后,家蝇幼虫体内也出现 9.68%的花生四烯酸,同时还出现 3.37%的亚油酸(来源于花生四烯酸油脂);而添加浓度为 12%的二十二碳六烯酸后,家蝇幼虫体内并没有出现二十二碳六烯酸,但出现了微量的花生四烯酸(1.36%)。显然,上述 4 种脂肪酸添加后,同时也使其他脂肪酸的含量有所改变。

表 3 饲料中不同多不饱和脂肪酸(PUFAs)对家蝇幼虫体内脂肪酸组成的影响 Table 3 Effect of different polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in the feed on the fatty acid composition in *Musca domestica* larvae

脂肪酸 Fatty acids	对照组 Control group	12%亚油酸 12% Linoleic acid	12% α-亚麻酸 12% Alpha-linolenic acid	12% 花生四烯酸 12% Arachidonic acid	12% 二十二碳六烯酸 12% Docosahexaenoic acid
肉豆蔻酸 Myristic acid	2.14 ±0.18 c	2.75 ± 0.21 b	2.11 ±0.16 a	1.00 ±0.08 d	2.16 ± 0.43 a
棕榈酸 Palmitic acid	$37.25 \pm 1.07 \ {\rm c}$	$41.07 \pm 1.18~{\rm b}$	$33.30 \pm 0.91 d$	$41.49 \pm 1.27 \text{ b}$	45.23 ± 1.83 a
棕榈油酸 Zoomaric acid	$13.68 \pm 0.75~{\rm b}$	$0.15\pm0.03~\mathrm{d}$	$14.03 \pm 0.78 \text{ b}$	23.30 ± 1.40 a	10.56 ± 0.53 c
硬脂酸 Stearic acid	$3.80 \pm 0.12 \text{ a}$	2.92 ± 0.10 c	$2.84 \pm 0.11 \text{ c}$	$3.37 \pm 0.11 \text{ b}$	$2.83 \pm 0.08 \text{ c}$
油酸 Oleic acid	31.24 ± 1.91 a	$18.44\pm1.40~\mathrm{c}$	$14.82 \pm 1.26 \text{ d}$	$27.46 \pm 1.69 \text{ b}$	$18.42 \pm 1.41 \text{ c}$
亚油酸 Linoleic acid	ND	21.93 ± 1.88 a	$6.16 \pm 0.33 \text{ b}$	$3.37\pm0.31~\mathrm{c}$	ND
α-亚麻酸 Alpha-linolenic acid	ND	ND	16.13 ± 1.03	ND	ND
花生酸 Arachidic acid	$11.89 \pm 0.99 \; \mathrm{b}$	$12.73 \pm 1.02 \text{ b}$	$9.50 \pm 0.83 \text{ c}$	9.53 ± 0.92 e	15.96 ± 1.12 a
花生四烯酸 Arachidonic acid	ND	ND	ND	9.68 ± 0.80	ND
二十碳五烯酸 Eicosapentaenoic acid	ND	ND	ND	ND	ND
二十二碳五烯酸 Docosapentaenoic acid	ND	ND	ND	ND	ND
二十二碳六烯酸 Docosahexaenoic acid	ND	ND	ND	ND	ND

2.3 饲喂不同浓度的多不饱和脂肪酸对家蝇幼虫 体重的影响

在家蝇幼虫基础饲料(麦麸)中添加不同浓度

的4种多不饱和脂肪酸饲养幼虫以研究多不饱和脂肪酸对其体重的影响,结果如表4所示。添加亚油酸和二十二碳六烯酸对家蝇幼虫体重并没有产生明

显的影响,家蝇幼虫体重在饲喂添加了0,3%,6%及12%亚油酸和二十二碳六烯酸之后没有显著差异(P>0.05)。α-亚麻酸和花生四烯酸对家蝇幼虫

体重有影响,其中 6% α -亚麻酸添加组的幼虫体重显著高于其他 3 个组别,3% 和 6% 花生四烯酸添加组的幼虫体重显著高于其他 2 个组别(P < 0.05)。

表 4 饲料中不同浓度多不饱和脂肪酸(PUFAs)对家蝇幼虫体重(mg)的影响

Table 4 Effect of different concentrations of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in the feed on the body weight (mg) of Musca domestica larvae

脂肪酸 Fatty acids	0	3%	6%	12%
亚油酸 Linoleic acid	29.50 ± 1.67 a	31.14 ± 1.72 a	31.54 ± 1.77 a	30.52 ± 1.63 a
α-亚麻酸 Alpha-linolenic acid	$29.50 \pm 1.67 \text{ b}$	$31.64 \pm 1.71 \text{ b}$	$34.06 \pm 1.80 \text{ a}$	$31.99 \pm 1.54 \text{ b}$
花生四烯酸 Arachidonic acid	$29.50 \pm 1.67 \text{ b}$	35.17 ± 1.69 a	$35.29 \pm 1.77 a$	$32.88 \pm 1.51 \text{ b}$
二十二碳六烯酸 Docosahexaenoic acid	29.50 ± 1.67 a	27.75 ± 1.67 a	27.57 ± 1.67 a	28.50 ± 1.67 a

3 讨论与结论

根据现有的文献中报道,家蝇体内可以检测到 较大量的亚油酸及少量的 α-亚麻酸等多不饱和脂 肪酸,但是家蝇对多不饱和脂肪酸尤其是除了亚油 酸、α-亚麻酸以外的多不饱和脂肪酸的富集能力以 及代谢情况并不清楚。本研究结果表明,家蝇体内 的亚油酸和 α-亚麻酸完全是从食物摄取而来的,因 为家蝇在经过数代脱脂传代培养后这些多不饱和脂 肪酸基本检测不出来,但经过在幼虫食物中添加多 不饱和脂肪酸饲喂后,其体内亚油酸和 α-亚麻酸含 量迅速增高,两者含量均大于10%,且随添加浓度 的增加而升高(在本次实验浓度范围内)。已有的 研究表明,正常情况下家蝇体内不含20个碳原子以 上长链的多不饱和脂肪酸。本研究中,在家蝇幼虫 食物中添加花生四烯酸后,其体内能检测到较高水 平含量的花生四烯酸,同样其含量随添加浓度的增 加而升高,在12%添加浓度下,幼虫体内花生四烯 酸含量可达 9.68%;但是,二十二碳六烯酸无论低 浓度还是高浓度的添加量均不能导致家蝇幼虫体内 检测出二十二碳六烯酸(表2),可能碳链越长的多 不饱和脂肪酸越难以富集到家蝇幼虫体内。显然, 家蝇幼虫对亚油酸的富集能力最强,其次是 α-亚麻 酸,最弱的是花生四烯酸。

从本研究结果(表 3)来看,家蝇幼虫食物中添加不同多不饱和脂肪酸后,经过代谢后并没有在其体内产生新的脂肪酸,不能将短链的亚油酸和 α-亚麻酸通过类似于哺乳动物中脂肪酸延长酶和去饱和酶作用后合成更长链的多不饱和脂肪酸。与对照组比较,添加亚油酸组仅在其体内增加亚油酸;添加α-亚麻酸组仅在其体内增加 α-亚麻酸和亚油酸,但

后者显然来源于亚油酸替代产品紫苏籽油;添加花 生四烯酸组仅在其体内增加花生四烯酸,尽管花生 四烯酸替代产品中还含有一定量的二十碳五烯酸和 二十二碳五烯酸,但它们均不能富集到家蝇幼虫体 内。这些数据同时也说明,食物来源的二十碳五烯 酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸等多不饱和 脂肪酸不能在家蝇幼虫体内富集,而是被分解代谢 后消除。实际上,家蝇缺乏哺乳动物中常见的参与 多不饱和脂肪酸生物合成代谢的△6 和△5 等去饱 和酶以及 E5 和 E2 等延长酶,目前在家蝇以及同为 双翅目的果蝇中仅发现△9去饱和酶,该酶能够将 硬脂酸催化转化为油酸,因此家蝇(Wang et al., 1982; Eigenheer et al., 2010)以及果蝇(Wicker-Thomas et al., 1997; The FlyBase Consortium, 2003) 体内可以自主合成油酸。同样,在果蝇体内也不能 合成 C18, C20 以及 C22 的多不饱和脂肪酸。在果 蝇脂质代谢相关研究表明,果蝇体内也存在 β-氧化 酶系,可以将各种脂肪酸进行 β-氧化降解,但多不 饱和脂肪酸的 β-氧化是如何进行的目前尚不清楚 (Ruden et al., 2005; Gutierrez et al., 2007; Murakami et al., 2017)。这些代谢酶学相关研究可 以合理解释本研究的结果。

本研究通过分析饲喂多不饱和脂肪酸的家蝇幼虫体重(表4)初步揭示,多不饱和脂肪酸对家蝇生长发育有不同程度的影响。经过数代脱脂传代培养后,家蝇的体重等生长发育指标降低,添加4种多不饱和脂肪酸后饲养,其体重有所恢复,α-亚麻酸和花生四烯酸效果较好,而亚油酸和二十二碳六烯酸效果并不显著。这可能和α-亚麻酸与花生四烯酸的代替产品中脂肪酸类型较为全面有关系,如α-亚麻酸、花生四烯酸中同时含有一定量的亚油酸,而亚油酸和二十二碳六烯酸替代产品仅含有该类型的多不

饱和脂肪酸。当然,若要更全面评估多不饱和脂肪酸对家蝇生长发育的影响,还需要进一步开展相关研究。本研究已经初步阐明了家蝇幼虫对几种主要的多不饱和脂肪酸的富集情况以及对幼虫生长过程中体重的影响,这为家蝇体内多不饱和脂肪酸的进一步研究及其开发利用奠定基础;然而,在更深层面上,PUFAs 在家蝇体内如何富集和分解,起到何种生物学作用及其作用机制本实验尚不能做出进一步的阐释,同时我们将继续对家蝇体内 PUFAs 的生物学作用及其机制进行更深入研究,期望在不久的将来能够较为清晰地阐明这些问题。

参考文献 (References)

- Connor WE, 2000. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. Am. J. Clin. Nutr., 71(1): 171S-175S.
- Eigenheer AL, Young S, Blomquist GJ, Borgeson CE, Tillman JA, Tittiger C, 2010. Isolation and molecular characterization of *Musca domestica*, delta-9 desaturase sequences. *Insect Mol. Biol.*, 11(6): 533 – 542.
- Gutierrez E, Wiggins D, Fielding B, Gould AP, 2007. Specialized hepatocyte-like cells regulate *Drosophila* lipid metabolism. *Nature*, 445 (7125): 275 – 280.
- Hwangbo J, Hong EC, Jang A, Kang HK, Oh JS, Kim BW, 2009. Utilization of house fly-maggots, a feed supplement in the production of broiler chickens. J. Environ. Biol., 30(4): 609-614.
- Kabeya N, Fonseca MM, Ferrier DEK, Navarro JC, Bay LK, Francis DS, 2018. Genes for de novo biosynthesis of omega-3 polyunsaturated fatty acids are widespread in animals. Sci. Adv., 4 (5): eaar6849.
- Kang JX, Wang J, 2005. A simplified method for analysis of polyunsaturated fatty acids. BMC Biochem., 6:5.
- Leaf A, Kang JX, 2004. Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease. World Rev. Nutr. Diet., 328 (7436): 24 37.
- Murakami A, Nagao K, Juni N, Hara Y, Umeda M, 2017. An Nterminal di-proline motif is essential for fatty acid-dependent

- degradation of $\Delta 9$ -desaturase in *Drosophila*. J. Biol. Chem., 292 (49): 19976 19986.
- Raksakantong P, Meeso N, Kubola J, Siriamornpun S, 2010. Fatty acids and proximate composition of eight Thai edible terricolous insects. *Food Res. Int.*, 43(1): 350-355.
- Rogers LK, Valentine CJ, Keim SA, 2013. DHA supplementation: current implications in pregnancy and childhood. *Pharmacol. Res.*, 70(1): 13 – 19.
- Ruden DM, Luca MD, Garfinkel MD, Bynum KL, Lu X, 2005.
 Drosophila nutrigenomics can provide clues to human gene-nutrient interactions. Annu. Rev. Nutr., 25: 499 522.
- Rumpold BA, Schlüter OK, 2013. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.*, 57 (5): 802 823.
- Simopoulos AP, 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. Am. J. Clin. Nutr., 70(3): 560S 569S.
- Stanley-Samuelson DW, Pedibhotla VK, 1996. What can we learn from prostaglandins and related eicosanoids in insects? *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 26(3): 223-234.
- The FlyBase Consortium, 2003. The FlyBase database of the *Drosophila* genome projects and community literature. *Nucleic Acids Res.*, 31 (1): 172 175.
- Wang DL, Dillwith JW, Ryan RO, Blomquist GJ, Reitz RC, 1982.
 Characterization of the acyl-CoA desaturase in the housefly *Musca domestica* L. *Insect Biochem.*, 12(5): 545-551.
- Wang Y, Lin DS, Bolewicz L, Connor WE, 2006. The predominance of polyunsaturated fatty acids in the butterfly *Morpho peleides* before and after metamorphosis. *J. Lipid Res.*, 47(3): 530 536.
- Wicker-Thomas C, Céline H, Dallerac R, 1997. Partial characterization of a fatty acid desaturase gene in *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 27(11): 963-972.
- Wysoczański T, Sokoła-Wysoczańska E, Pękala J, Lochyński S, Librowski T, 2016. Omega-3 fatty acids and their role in central nervous system – a review. Curr. Med. Chem., 23(8): 816 – 831.

(责任编辑:赵利辉)